Institut für Anthropologie und Humangenetik
der Universität Tübingen
Direktor: Professor Dr. rer. nat. Dr. med. Horst Ritter

# FORMALGENETISCHE UNTERSUCHUNGEN EINIGER SERUMPROTEINPOLYMORPHISMEN (Pi, Gc, Tf) MIT HILFE DER ISOELEKTRISCHEN FOKUSSIERUNG

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades
der Zahnmedizin

der Medizinischen Fakultät
(Theoretische Medizin)
der Eberhard-Karls-Universität
Tübingen

vorgelegt von

**Ulrich Schlagenhauf**
aus Onstmettingen

1984

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41536524_0013

Institut für Anthropologie und Humangenetik
der Universität Tübingen
Direktor: Professor Dr. rer. nat. Dr. med. Horst Ritter

# FORMALGENETISCHE UNTERSUCHUNGEN EINIGER SERUMPROTEINPOLYMORPHISMEN (Pi, Gc, Tf) MIT HILFE DER ISOELEKTRISCHEN FOKUSSIERUNG

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades
der Zahnmedizin

der Medizinischen Fakultät
(Theoretische Medizin)
der Eberhard-Karls-Universität
Tübingen

vorgelegt von

**Ulrich Schlagenhauf**
aus Onstmettingen

1984

Dekan: Prof. Dr. med. G. Fichtner
1. Berichterstatter: Prof. Dr. rer. nat. Dr. med. Horst Ritter
2. Berichterstatter: Prof. Dr. phil. D. Sperlich

Offsetdruck Spengler
Lessingstraße 4 · 7401 Neustetten 1
Telefon (0 74 72) 2 21 45

Meinen Eltern gewidmet

Herrn Prof. Dr. Dr. H. Ritter danke ich für die Überlassung des Themas und die Beratung bei der Abfassung der Arbeit.

Mein besonderer Dank gilt Herrn Dr. J. Kömpf für die wertvolle Unterstützung, die er mir während der gesamten Arbeit zukommen ließ.

Inhaltsverzeichnis


| | Seite |
|---|---|
| Einleitung | 1 |
| Ziel der Arbeit | 17 |
| Material und Methoden | 17 |
| Prinzip der Elektrofokussierung | 18 |
| Ergebnisse und Diskussion | 26 |
| Zusammenfassung | 54 |
| Literaturverzeichnis | 55 |

## Einleitung

Genetisch determinierte Strukturpolymorphismen der Plasmaproteine alpha$_1$-Antitrypsin (Pi), Transferrin (Tf) und der Gruppenspezifischen Komponente (Gc) sind seit den Arbeiten von Smithies (28), Hirschfeld (18) und Fagerhol et al. (13) bekannt.

Die routinemäßige Darstellung dieser Proteine erfolgte bisher durch die Stärkegelelektrophorese (SGE) für Tf und Pi bzw. durch die Immunelektrophorese für Gc.

Die Einführung der Elektrofokussierung als Trennmethode durch Allen et al. (1) führte bei diesen Proteinen zur Aufdeckung weiterer bisher unbekannter Genprodukte, damit zu einer Erweiterung der formalen Modelle.

## Alpha$_1$-Antitrypsin

Das alpha$_1$-Antitrypsin ($\alpha_1$-AT) oder auch Proteaseninhibitor (Pi) ist ein Serumglykoprotein der $\alpha_1$-Globulinfraktion. Es besitzt ein Molekulargewicht von 54000 und bildet 3,7 % des Serumgesamtproteins sowie den Hauptbestandteil der $\alpha_1$-Fraktion.

Die Funktion des $\alpha_1$-AT als Antagonist des Trypsins, des Chymotrypsins und indirekt des Plasmins wurde erstmals durch Bundy und Mehl (2) beschrieben. Durch die Arbeiten von Eriksson (18) und Sharp (40) wurde eine Korrelation zwischen erniedrigten Serumspiegeln an $\alpha_1$-AT einerseits und den Krankheitsbildern des adulten Lungenemphysems sowie der juvenilen Leberzirrhose andererseits hergestellt.

Fagerhol und Laurell (19) wiesen einen Polymorphismus des $\alpha_1$-AT nach. Ihr fomales Modell lautete:
Drei Allele $Pi^M$, $Pi^Z$ und $Pi^S$ sowie seltene Varianten an einem autosomalen Locus Pi.

Weitere Untersuchungen (3,39 )ergaben, daß Homozygote für $Pi^Z$ nur etwa 10 % des Normalserumspiegels an $\alpha_1$-AT aufweisen und somit ein erhöhtes Erkrankungsrisiko für die oben angeführten Krankheitsbilder besitzen.

Das am häufigsten vorkommende Merkmal M konnte Johnson (27) mit Hilfe des SGE und anschließender Immunofixation in zwei sogenannte Subtypen untereilen: M1 und M2.

Die Einführung der Elektrofokussierung zur Auftrennung der Pi-Proteine durch Allen (1) brachte einen weiteren entscheidenden Fortschritt für die genetische Analyse des $\alpha_1$-Antitrypsin-Polymorphismus. Aufgrund der Arbeiten von Genz et al. (24), Frants und Eriksson (22) sowie Constans et al. (11)stellt sich das formalgenetische Modell des Pi-Polymorphismus wie folgt dar: 4 Subtypenallele $Pi^{M1}$, $Pi^{M2}$, $Pi^{M3}$, $Pi^{M4}$sowie zahlreiche Varianten an einem autosomalen locus Pi.

Mehr als 30 verschiedene Pi-Strukturvarianten des $\alpha_1$-Antitrypsins wurden in der Literatur beschrieben. Übersichten finden sich bei Fagerhol (19), Kühnl und Spielmann (31), Constans et al (11), Fagerhol und Cox (20), Cox (15) und Weidinger (44). Die Varianten wurden nach vergleichenden Untersuchungen in der sauren Stärkegelelektrophorese, der Agarosegelelektrophorese und der isoelektrischen Fokussierung nach ihrer relativen anodischen Mobilität geordnet (siehe hierzu auch Milford Ward et al.35). Die Benennung der Varianten wurde durch das Pi-Nomenklaturkommitee in Rouen (1978; Cox et al.14 ) geregelt.

Um die Vielfalt des Pi-Strukturpolymorphismus übersichtlich darzustellen, wurden 3 verschiedene Diagramme angefertigt: Diagramm 1 beschreibt die Positionen der Genprodukte der sogenannten M-Subtypenallele. Die relative anodische Mobilität dieser Genprodukte lässt sich schematisch so wiedergeben: pi $M_1$ pi $M_3$ pi $M_4$ pi $M_2$.

In der Darstellung sind die Abstände zwischen den Banden stark vergrößert, im Maßstab 6 : 1, wiedergegeben.
An dieser Stelle muss im Hinblick auf den Abschnitt "Ergebnisse" noch folgendes angemerkt werden:
In Abhängigkeit von den verwendeten Materialien und Techniken gibt es auch bei der isoelektrischen Fokussierung Analysegrenzen: Werden handelsübliche Fertigplatten (z.B. wie in der vorliegenden Arbeit von der Firma LKB) verwendet, so gelingt eine gut befriedigende Differenzierung der Genprodukte pi $M_3$ und pi $M_4$ nicht. Selbst bei der Diagnose pi $M_3$-Genprodukte in den verschiedenen Heterozygoten Kombinationen können Schwierigkeiten auftreten. Hierfür müssen aber noch spezielle Methoden erarbeitet werden.

Im zweiten Schaubild sind diejenigen Varianten dargestellt, deren Genprodukte anodisch von pi $M_1$ wandern. In Abhängigkeit von ihrer Beweglichkeit werden sie mit den Buchstaben von B - < L bezeichnet (vgl. Fagerhol,20 ). Einige seltene Varianten erhielten zursätzliche Ortsnamen als Index:

UNIV. LEIDEN BIBL.

E lem = E LEMBURG, E cin = E CINCINNATI; oder als vorläufige Bezeichnungen : Pi $^{<L}$ ist eine Variante, deren Gen-Produkt etwas langsamer ist als pi L (Kühnl und Spielmann 31). Cox et al. (15) beschrieben (1982) eine weitere Variante Pi $^{Efra}$ = Pi E FRANKLIN mit intermediärer Mobilität zwischen Pi $^{E\ lem}$ und Pi $^{E\ cin}$.

Das dritte Diagramm schließlich zeigt die Positionen der kathodisch wandernden Pi-Varianten. Zum Vergleich ist der heterozygote Phänotypus Pi $M_1$ $M_2$ wiedergegeben. In Anlehnung an die historische Nomenklatur erhielten diese Varianten die Buchstaben N bis Z. pi N besitzt die größte, pi $Z_1$ die geringste relative anodische Mobilität. Auch hier wurden " lokale Varianten" mit speziellen Indizes versehen: M cha = M CHAPEL HILL, N ham = N HAMPTON, P bud = P BUDAPEST, P stl = P ST.LOUIS, P kyo = P KYOTO, W sal = W SALERNO, X bri = X BRIGHTON, Y tor = Y TORONTO, Z pra = Z PRATT.
Eine vorläufige Benennung stellt Pi $^{Z}1$ dar; eine Variante mit geringerer Mobilität als Pi $^{Z}$pra. Zwei weitere Varianten wurden von Cox et al. (13) beschrieben:
Pi $^{cas}$ ( pi CASTORIA) und X $^{alb}$ (pi X ALBAN).

Diagramm 1 :

Schema der Positionen der Genprodukte pi M1, pi M2, pi M3, pi M4 im pH-Bereich 4 - 5 (nach Constans et al., 1980). Maßstab 6:1. Nur die Pi - Hauptbanden sind dargestellt.

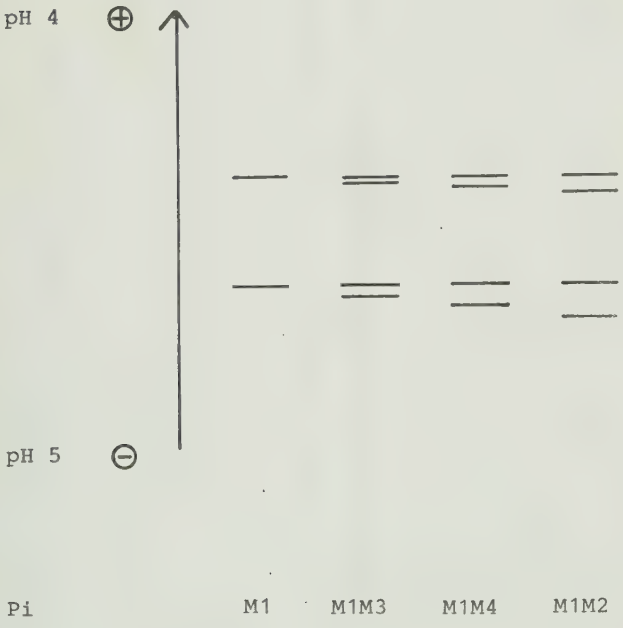


Diagramm 2:

Synopsis der anodisch wandernden Pi - Varianten.
(Bezugslinie Pi M1; Maßstab 2:1).
Nach Kühnl u.Spielmann (1979), Cox et al. (1982)

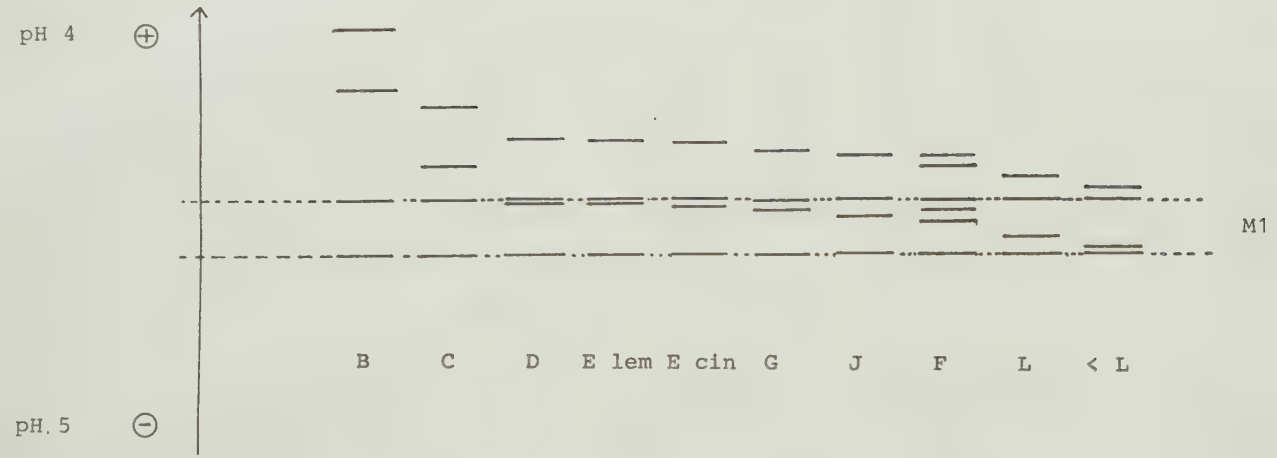
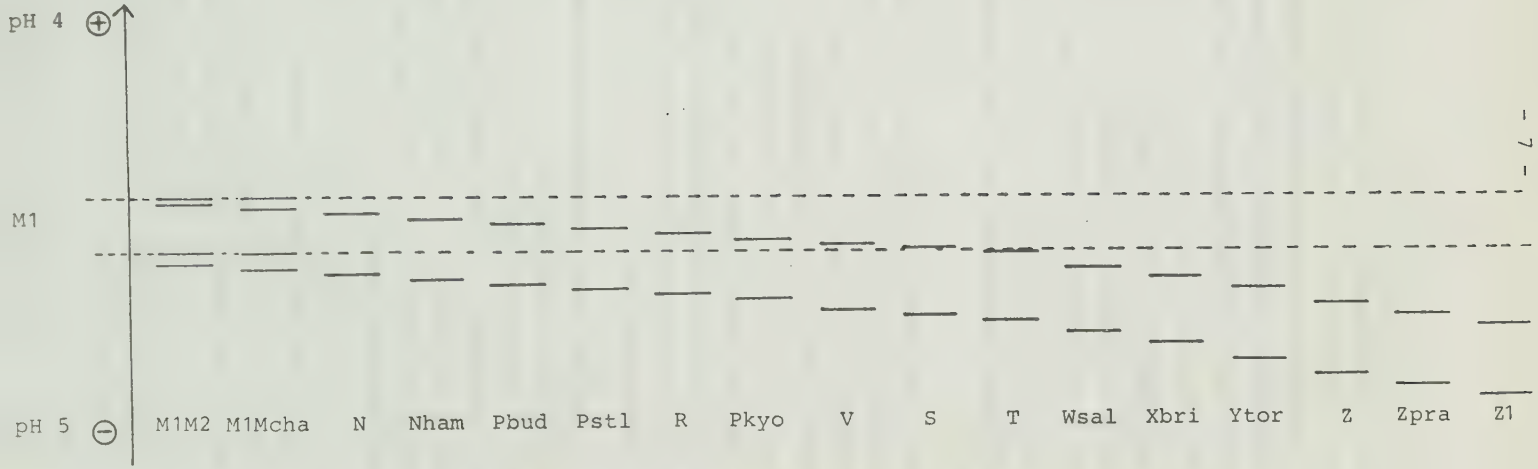


Diagramm 3:

Synopsis der kathodisch wandernden Pi-Varianten.
(Bezugslinie: Hauptbanden Pi M1; Maßstab 2:1)
Nach einer Zusammenstellung von Kühnl u. Spielmann (1979), sowie Weidinger (1982)



## Gruppenspezifische Komponente (Gc)

Die Gruppenspezifische Komponente (Gc) ist ein Serumprotein der $\alpha_2$-Globulinfraktion mit einem Molekulargewicht von etwa 51000. Seine vermutete physiologische Bedeutung besteht in der Bindung und dem Transport von Vitamin D3 (Daiger et al. (16).

1959 entdeckte Hirschfeld (26) mit Hilfe der Immunelektrophorese einen genetisch determinierten Strukturpolymorphismus mit zwei häufigen Allelen $Gc^1$ und $Gc^2$.

1977 gelang es Constans et al. (7) mit Hilfe der Elektrofokussierung, Genprodukte gc 1 zu unterteilen in: gc 1S und Gc 1F.

Dadurch lässt sich das bisherige formale Modell erweitern: 3 häufige Allele $Gc^{1S}$, $Gc^{1F}$, $Gc^2$ an einem autosomalen locus Gc. Daneben wurden zahlreiche seltene, zum Teil populationsspezifische Varianten beschrieben( 8,9 ).
Cleve et al. (6) geben eine schematische Übersicht der Positionen der Genprodukte von 36 verschiedenen Gc-Varianten. 26 davon weisen im homozygoten Zustand Doppelbandenmuster auf; wahrscheinlich Abwandlungen des Genproduktes gc 1. 10 weitere weisen wie gc 2 eine einfache Bande auf.

Nach den Empfehlungen des Nomenklaturkommitees beim Int. Gc Workshop (Constans et al. 9 ) werden die anodisch wandernden Varianten mit dem Index A, die kathodisch wandernden Varianten mit dem Index C gekennzeichnet; also z.B.: 1 A 1, 1 C 1, 2 A 1, 2 C 1, usw.: Die Zahlen 1 und 2 vor dem Buchstaben geben an, ob die Variante eine Doppel- oder eine Einfachbande aufweist.
Cleve et al(6 ) liefern überdies einen tabellarischen Vergleich der alten und neuen Gc-Nomenklatur.

Die folgenden Diagramme wurden nach der Abbildung 1a von Cleve et al. (6) angefertigt. Der besseren Übersicht wegen wurden die Varianten von gc 1 und gc 2 auf verschiedenen Schaubildern dargestellt. Als Referenz dienen die häufigen Phänotypen Gc 2 und Gc 1F.

Die Diagramme zeigen, daß offensichtlich die genetisch determinierte Variabilität der gc 1 -ähnlichen Produkte wesentlich größer ist als die der gc 2-ähnlichen Varianten. Allerdings differieren letztere stärker hinsichtlich ihrer isoelektrischen Punkte, während eine ganze Reihe von 1A- und 1C-Varianten in praxi doch sehr schwer auseinanderzuhalten sind. Fehlinterpretationen oder Übersehen von Varianten sind daher bei den "üblichen Fokussierungsmethoden" durchaus denkbar.

Synopsis der Gc - Varianten mit Doppelbanden.
Nach einer Darstellung von Cleve et al. (1981)

Diagramm 4

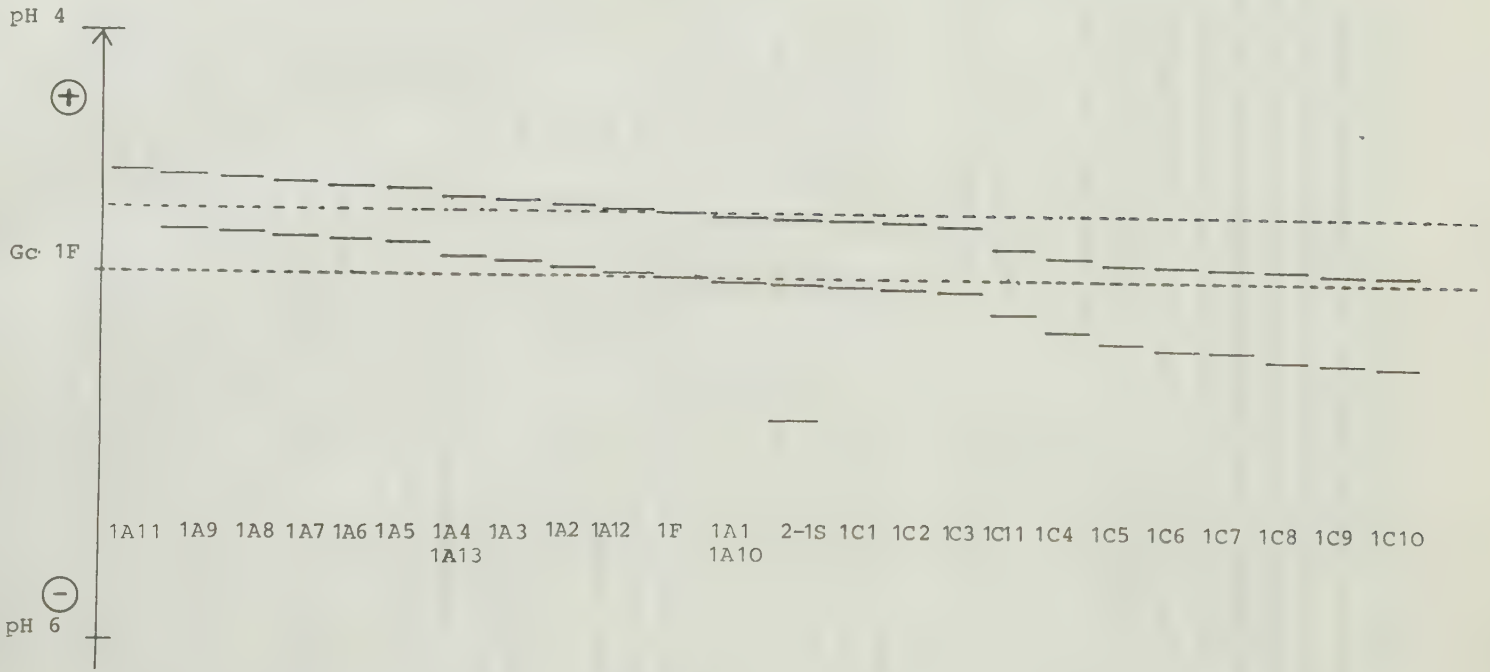
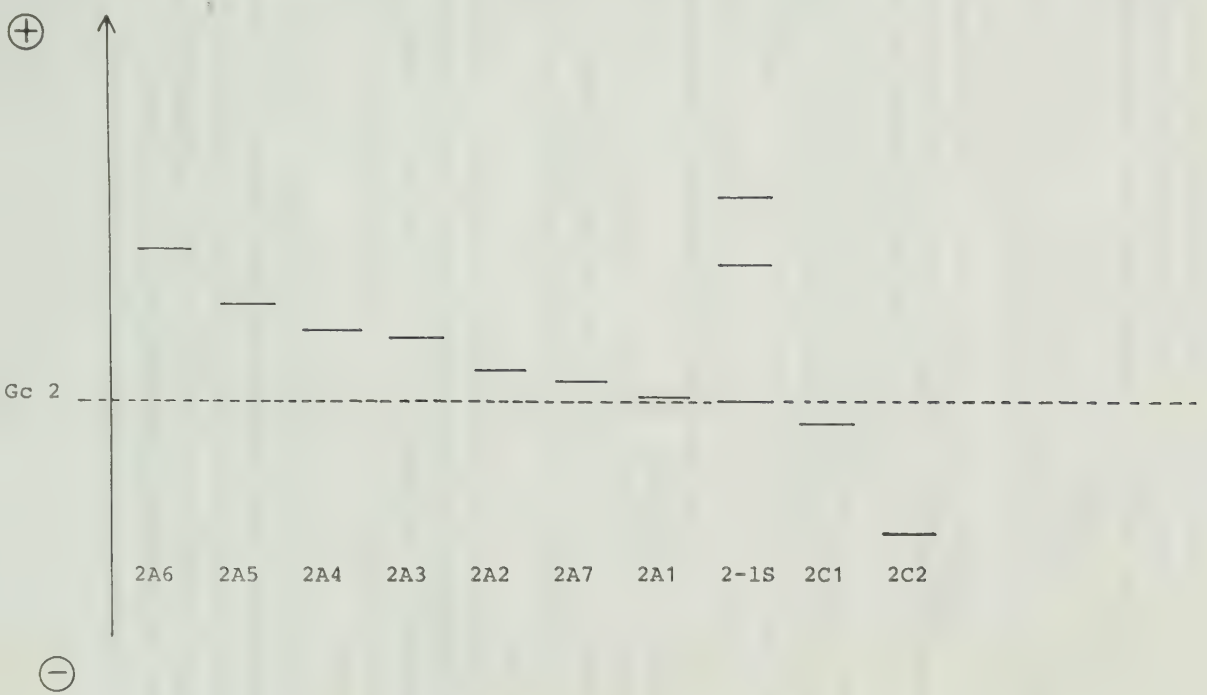


Diagramm 5

Synopsis der Gc-Varianten mit Einfachbanden.

Nach einer Darstellung von Cleve et al. (1981)



## Transferrin

Das Transferrin (Tf) ist ein Serumprotein der $\beta_1$-Globulinfraktion mit einem Molekulargewicht von etwa 76500.

Die mutmaßliche Funktion des Tf besteht im Transport von $Fe^{2+}$ Ionen sowie im Schutz des Organismus vor renalen Eisenverlusten und vor zu großen Mengen frei zirkulierender Eisenionen. ( Putnam 37 ).

Genetisch kontrollierte Varianten des Tf wurden erstmals von Smithies (41) mit Hilfe der SGE beschrieben.

In der Folgezeit wurde eine Vielzahl von verschiedenen Transferrinvarianten entdeckt; die sogenannten B-Varianten wandern schneller, die D-Varianten langsamer als Tf C.

1978 gelang es Thymann (43) sowie Kühnl und Spielmann (28) mit Hilfe der isoelektrischen Fokussierung (PAGIF), das häufigste Merkmal, $Tf^C$, in zwei "Subtypen" zu spalten.

Ein weiterer "Subtyp", $Tf^{C3}$, wurde von Kühnl und Spielmann (30) mit Hilfe verbesserter PAGIF-Methoden (schmalerer pH-Gradient) beschrieben.
Weitere, sog. "Subtypenallele" des Transferrins, $Tf^{C4}$, $Tf^{C5}$, wurden von Constans et al. (10) mitgeteilt. Dadurch wird die Strukturvariabilität des Transferrins-Systems nochmals vergrößert.
Die Positionen der Genprodukte, die von den verschiedenen "Subtypenallelen" kontrolliert werden, ist im Diagramm dargestellt. Genprodukte tf C3, tf C5, tf C2 liegen kathodisch von tf C1; tf C4 ganz leicht anodisch von tf C1.

Eine ganze Reihe von Transferrinvarianten, die z.T. als populations- oder stammesspezifisch (Ritter 38 ) bezeichnet werden können, wurden bereits mit Hilfe konventioneller Separationsmethoden beschrieben. Eine Zusammenstellung nach der Wanderungsgeschwindigkeit in der Stärkegelelektrophorese findet sich z.B. bei Giblett (25).

Die sog. Tf-$^{B}$-Varianten wandern schneller, die Tf$^{D}$-Varianten dagegen langsamer als Tf$^{C}$. Wie beim Pi-System wurden auch hiwe ;lokale" Indizes zur speziellen Charakterisierung verwendet. Allerdings steht ein genereller methodischer Vergleich zwischen verschiedenen Trennverfahren (wie z.B. beim Pi-System) noch aus.

In Anlehnung an die Darstellungen bei Giblett (25) und Constans et al.(10) wurde in den Diagrammen versucht, eine Synopsis der Strukturvarianten im Tf-System wiederzugeben. Als Vergleichspunkt dient die relative Mobilität des Genproduktes tf C1.

Anodisch wandernde "lokale" Varianten im Tf-System:
B Lae, B Atalanti, B Lambert.
Kathodisch wandernde "lokale" Varianten:
D Manus, D Adelaide, D Wigan, D Montreal, D Chippeva, D Finland, D Indonesia.

Diagramm 6

Relative Positionen der Genprodukte der Tf- "Subtypenallele".

(nach Constans et al., 1980)

Vergrößert im Maßstab 2:1

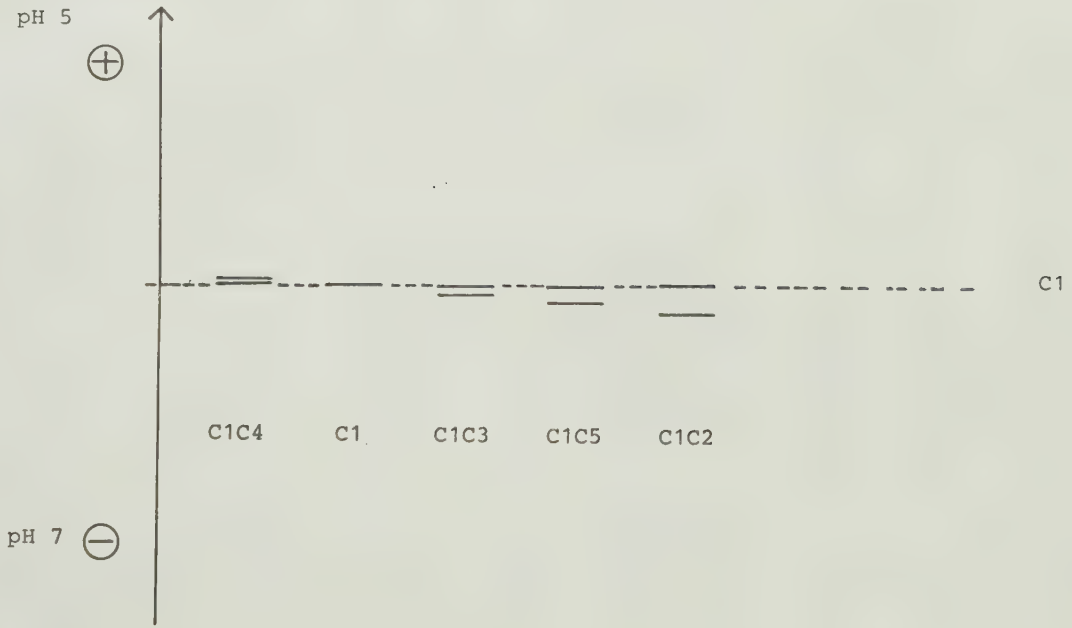


Diagramm 7
Relative Position der seltenen, kathodisch wandernden Tf-Varianten.
Nach Giblett (1969), angeglichen nach Constans et al. (1980).
Vergrößert im Maßstab 2:1

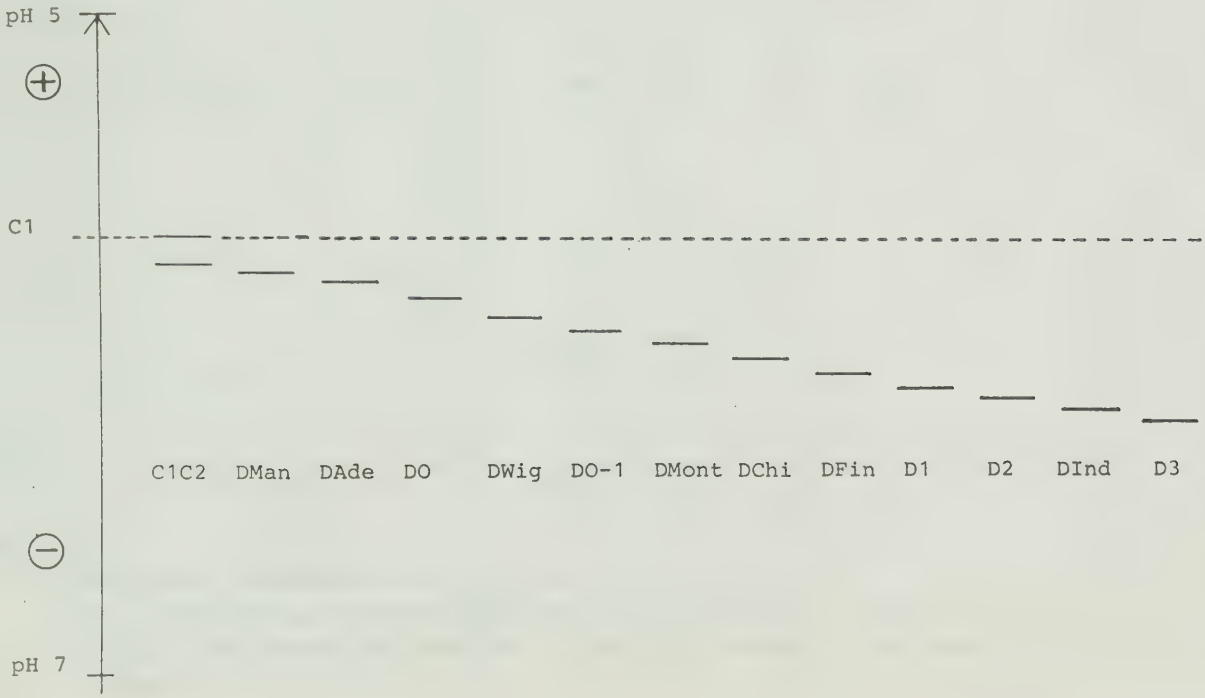
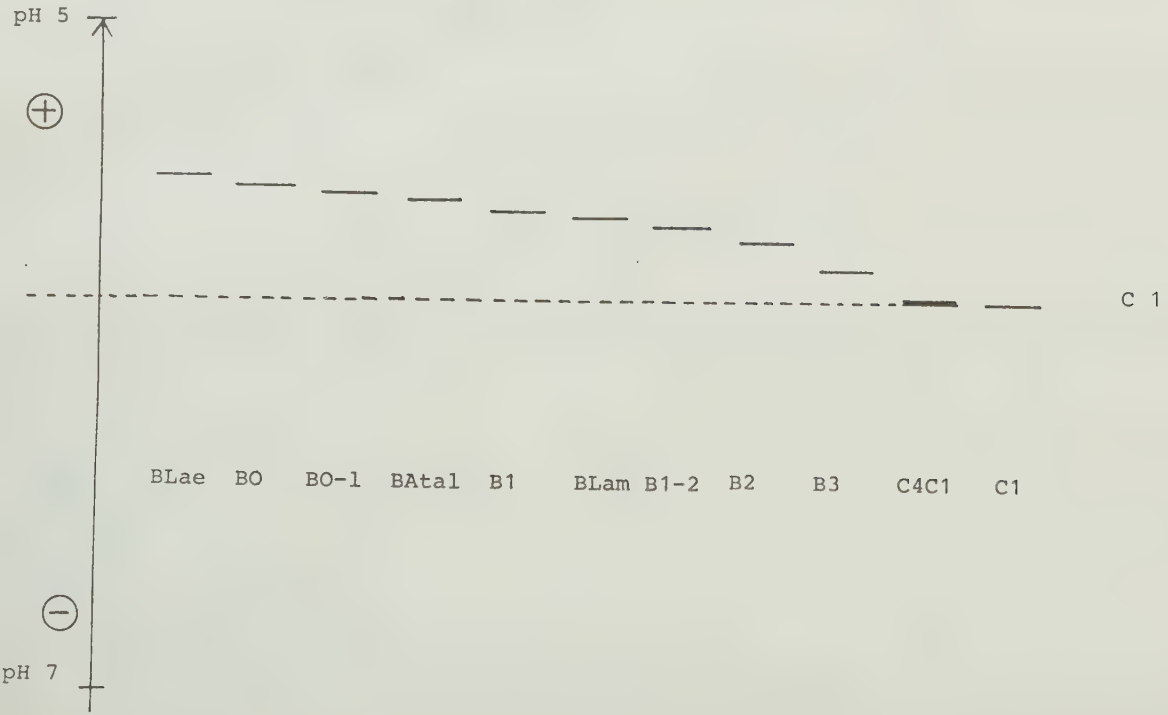


Diagramm 8
Relative Positionen der seltenen, anodisch wandernden Tf-Varianten.
Nach Giblett (1969), angeglichen nach Constans et al. )1980).
Vergrößert im Maßstab 2:1.



## Ziel der Arbeit

Ziel der Arbeit war es, an einem Kollektiv von 109 Familien aus dem südwestdeutschen Raum eine Überprüfung der formalgenetischen Modelle für die Polymorphismen des $alpha_1$-Antitrypsins (Pi), des Transferrins (Tf) und der Gruppenspezifischen Komponente (Gc) durchzuführen und außerdem Kopplungsanalysen der genannten Marker mit ca. 20 weiteren Polymorphismen zu erstellen.

## Material und Methoden

Die untersuchten Seren stammten von 109 Familien mit 312 Kindern aus dem südwestdeutschen Raum. Die Proben waren zwischen 2 Monaten und 5 Jahren bei $-30^{o}C$ gelagert.

Alle Analysen wurden auf kommerziell erhältlichen Polyacrylamidgelträgerplatten (PAGIF) durchgeführt. Dabei verwendeten wir den Spannungsgeber "LKB Multiphor 2117" sowie "Ampholine Pagplates" der Firma LKB-Produkter AB, Box 305, S-151 26 Bromma, Schweden. Die Kühlwassertemperatur betrug $+10^{o}C$.

Die Proben wurden mit Impfpapieren (Whatman No. 1) der Dimension 7 mm x 4 mm aufgebracht. Ca. 40 Proben konnten in einem Arbeitsgang analysiert werden.

## Prinzip der Elektrofokussierung

Die Primärstruktur von Proteinen, Peptiden und Enzymen besteht aus einer genetisch determinierten, linearen Abfolge von Aminosäuren, die entweder basische, saure oder neutrale Gruppen besitzen. In wässriger Lösung liegen die Proteinmoleküle in einer bestimmten räumlichen Konfiguration vor. Für die Trennungen von Proteingemischen im elektrischen Feld spielt die Oberflächenladung der einzelnen Moleküle eine entscheidende Rolle; d.h. die Summe der negativen und positiven Ladungen im umgebenden Puffermilieu.

In einem bestimmten pH-Bereich ist die Summe der positiven und negativen Ladungen gleich: Das Molekül verhält sich elektrisch neutral. Dieser pH-Wert ist für jedes Protein charakteristisch: Man nennt diesen den isoelektrischen Punkt (IEP) eines Proteins.

Bei der Elektrofokussierung bringt man ein Protein in ein Milieu, das für einen definierten Bereich einen stabilen pH-Gradienten aufweist. Im elektrischen Feld, längs des Gradienten, wird dieses Molekül in Richtung derjenigen pH-Zone wandern, die seinem IEP entspricht. Je näher es diesem Punkt kommt, umso geringer wird die nach außen wirksame Ladung und damit die bewegende Kraft. Schließlich erreicht das Molekül den pH-Wert, in dem seine Nettoladung gleich Null ist, also seinen isoelektrischen Punkt (IEP). Unter Standardbedingungen wird das betreffende Protein stets an dem für ihn charakteristischen isoelektrischen Punkt nachweisbar sein.

Trägt man nun ein Gemisch verschiedener Proteine auf, so wird jedes einzelne seinem für ihn typischen IEP zustreben und dort liegenbleiben.

## Prinzip der Elektrofokussierung - 2

Als Träger verwendet man häufig Gelplatten aus Polyacrylamid. Um einen definierten, möglichst stabilen und linearen pH-Gradienten im Träger zu erreichen, setzt man dem Gel spezielle Trägerampholyte zu: niedermolekulare Polyamino-, Polycarbonsäuren mit genau definierten IEP-Werten. Möchte man einen bestimmten pH-Gradienten im Träger aufbauen, so setzt man Ampholytgemische zu, deren isoelektrische Punkte innerhalb dieses pH-Bereiches liegen.

An die so vorbereitete Trägerplatte wird nun eine Spannung angelegt. Die Anode wird dabei mit einer Elektrolytlösung getränkt, die saurer ist als der gewünschte pH-Bereich des Gradienten, die Kathode mit einem Elektrolyten, der basischer reagiert.

Nach dem Anlegen einer Spannung an diese Platte ordnen sich die Ampholyte je nach ihrem isoelektrischen Punkt im Trägergel an, und es kommt zur Ausbildung eines pH-Gradienten. Danach wird das zu analysierende Proteingemisch aufgetragen.

Für die optimale Trennung bestimmter Proteine müssen spezielle Trägergele eingesetzt werden.

## $Alpha_1$-Antitrypsin (Pi) - Analyse

20 µl Serum wurden jeweils mit 80 µl einer 3 mg% Eisen-II-Sulfatlösung verdünnt. Als Träger wurde die Ampholine Pagplate Nr. 1804-111 von LKB verwendet mit einem pH-Gradienten von pH 4.0 - 5.0. Als Elektrolytlösungen wurden kathodisch 1 M Glycin, anodisch 1 M Phosphorsäure verwendet.

Die Gelplatte wurde 30 Minuten bei maximal 1200 V und maximal 25 Watt Leistung vorfokussiert.

Danach wurden die serumgetränkten Impfpapiere etwa 15 mm anodisch der Kathode aufgebracht. Nach weiteren 30 Minuten mit unveränderter Geräteeinstellung wurden die Impfpapiere wieder entfernt und die angelegte Spannung für weitere 3 Stunden auf maximal 1600 V erhöht, bei weiterhin maximal 25 Watt.

Eine Verlängerung des Versuches über einen längeren Zeitraum als die angeführten 3 Stunden nach Entfernung der Impfpapiere erwies sich als nicht sinnvoll, da die - theoretisch erreichbare - höhere Auflösung zwischen den einzelnen Banden durch das Phänomen der kathodischen Drift der Trägerampholyte zunichte gemacht wurde.

Nach Abschluß der Fokussierung wurde die Trägerplatte mindestens 2 Stunden fixiert, darauf die Fixierlösung mit Hilfe der Entfärbelösung wieder entfernt und die Platte anschließend mit 30-40°C warmer Färbelösung 10 Minuten lang gefärbt. Zuletzt wurde die Trägerplatte mit Hilfe der Entfärbelösung wieder entfärbt und bis zur Analyse zum weiteren Entfärben 1 Tag in frische Entfärbelösung gelegt.

Analyse der Gruppenspezifischen Komponente

Die verwendete Serenverdünnung sowie die Trägergelplatte entsprachen der Pi-Analyse.

Die Trägergelplatte wurde 30 Minuten vorfokussiert bei einer angelegten Spannung von maximal 1200 V und maximal 25 Watt Leistung. Danach wurden die serumgetränkten Impfpapiere aufgebracht und nach weiteren 30 Minuten bei unveränderter Geräteeinstellung wieder entfernt. Nach weiteren 30 Minuten bei maximal 1600 V angelegter Spannung und maximal 25 Watt Leistung erfolgte der Immunabklatsch der Gc-Banden mit Anti-Human Gc-Globulin getränkten Celluloseacetatfolien (Schleicher und Schüll CA-Elektrophoresefolien).

Die etwa 30 mm breiten Acetatstreifen wurden nach 1 Minute wieder vorsichtig entfernt und für wenigstens 1 Stunde in physiologischer Kochsalzlösung gewässert. Sodann wurden sie mit 30 - 40°C warmer Färbelösung für 10 Minuten gefärbt und anschließend mit Hilfe der Entfärbelösung wieder geklärt, bis die verschiedenen Bandenmuster klar zu erkennen waren.

Um den Zeit- und Materialaufwand zu minimalisieren, wurden die Gc- und Pi-Analysen auf derselben Trägerplatte erstellt. 30 Minuten nach Entfernen der Impfpapiere wurde der Immunabklatsch der Gc-Banden durchgeführt und anschließend 2 1/2 Stunden weiterfokussiert, wie zur Pi-Analyse angegeben.

Diese Kombination konnte problemlos angewandt werden, da sich die Gc-Banden weiter kathodisch darstellen als die Pi-Banden und somit eine Beeinträchtigung der Pi-Analyse durch eventuelle Verletzungen des Gels beim Abziehen der zur Gc-Analyse benötigten Acetatfolien nicht zu befürchten war.

Eine weitere Vereinfachung bestand darin, daß die zur Pi- und Gc-Analyse verwendeten Proben auch zur Tf-Analyse herangezogen wurden und zu diesem Zweck lediglich mit Neuraminidase beimpft und inkubiert werden mußten.

Transferrin (Tf) - Analyse

Zur Analyse wurden Ampholine Pagplates Nr. 1804-102 der Firma LKB verwendet, mit einem pH-Gradienten von pH 4,0 - 6,5. Als Elektrolytlösungen wurden anodisch 1 M Phosphorsäure und kathodisch 1 M Natronlauge aufgebracht.

20 µl Serum wurden jeweils mit 80 µl einer 3 % Eisenchloridlösung verdünnt, anschließend mit 20 µl einer 2 mg% (w/v) Neuraminidaselösung (Boehringer) versetzt und bei 37°C 3 Stunden inkubiert.

Die Trägerplatte wurde 45 Minuten vorfokussiert bei maximal 25 Watt Leistung. Daraufhin wurden die serumgetränkten Impfpapiere 40 mm anodisch der Kathode aufgebracht und nach weiteren 30 Minuten bei gleichbleibender Geräteeinstellung wieder entfernt. Anschließend wurden die Proben weitere 3 Stunden bei maximal 1600 V angelegter Spannung sowie weiterhin 25 Watt maximaler Leistung fokussiert und, wie bei der Beschreibung der Pi-Analyse angegeben, fixiert, gefärbt und entfärbt.

Färbelösung

| | |
|---|---|
| 30 g | Sulfosalicylsäure (Merck 691) |
| 330 ml | Äthanol 98 % |
| 660 ml | $H_2O$ |
| 1 g | Serva Blau (Best. Nr. 35051) |

Fixierlösung

| | |
|---|---|
| 115 g | Trichloressigsäure (Merck 807) |
| 35 g | Sulfosalicylsäure (Merck 691) |
| ad 1000 ml | $H_2O$ |

Entfärbelösung

| | |
|---|---|
| 2,5 l | Äthanol 98 % |
| 0,8 l | Essigsäure 99 % |
| ad 10,0 l | $H_2O$ |

Eisen-II-sulfat (Merck 3965) 25 mg in 100 ml Aqua dest.

Neuraminidase (Boehringer 107590)
Inhalt eines Fläschchens mit 500 µl 0,9 % NaCl-Lösung lösen.

Anti-Human Gc-Globulin (Dako, Copenhagen, Denmark,
Code 10-021, Vertrieb: Boehringer)
1 ml Globulin verdünnt mit 500 µl 0,9 % NaCl-Lösung.

Pi - Zymogrammbeschreibung

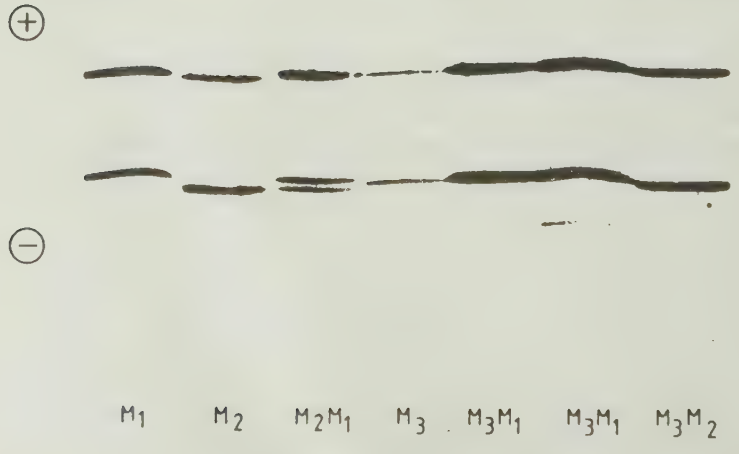
Abbildung 1 zeigt einige häufige Pi-Phänotypen von links nach rechts: Pi M1, Pi M2, Pi M1M2, Pi M3, Pi M1M3, Pi M1M3, Pi M2M3.

Jeder dieser Phänotypen ist durch ein spezifisches Muster verschiedener Banden gekennzeichnet, die sich bei der Immunfixation mit monospezifischen Antisera selektiv darstellen lassen, also offensichtlich Pi-Protein repräsentieren.

Der homozygote Phänotypus Pi M1 weist 4 unterscheidbare Banden auf, von denen die beiden anodischer liegenden Fraktionen besonders stark gefärbt sind. Die Hauptbanden für die Homozygoten Pi M2 liegen deutlich kathodischer. Genprodukte pi M3 nehmen eine intermediäre Lage zwischen den Hauptfraktionen von pi M1 und pi M2 ein.

Die heterozygoten Phänotypen weisen Bandenmuster auf, die sich aus einer Mischung der jeweiligen homozygoten Phänotypen ergeben.

häufige $P_i$-Phänotypen



Zymogrammbeschreibung Pi

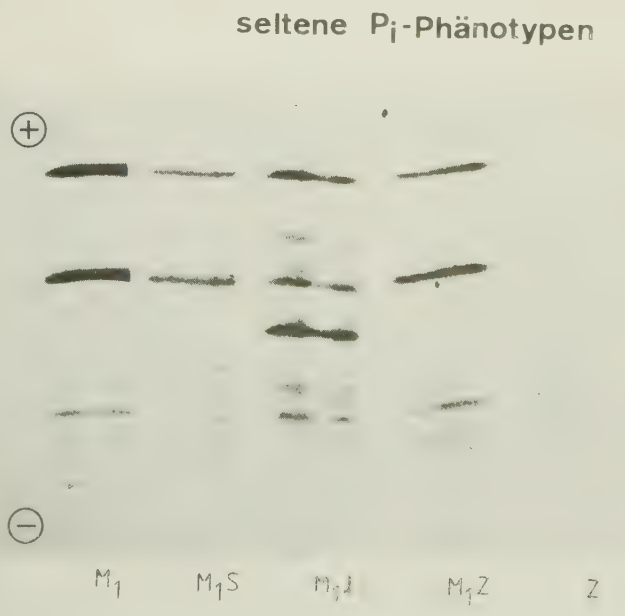
In Abb. 2 sind einige seltene Pi-Phänotypen dargestellt; von links nach rechts: M1, M1-S, M1-I, M1-Z, Z.

Die Genprodukte der Varianten S, I, Z liegen deutlich kathodisch von M1, in der absteigenden Reihenfolge I, S, Z.

Die dargestellten Bandenmuster sind aber nicht nur durch die verschiedenen IEP-Werte charakterisiert, sondern die Intensität derselben unterscheidet sich teilweise erheblich vom "normalen" Muster (hier wurde zum Vergleich der homozygote Phänotypus M1 eingesetzt).

Genprodukte pi I weisen annähernd die Stärke von pi M1 auf, die Genprodukte pi S und pi Z sind dagegen auffallend schwach gefärbt.

Dies trifft insbesondere für pi Z zu, wie der Vergleich zwischen den Phänotypen Pi M1 und Pi Z deutlich macht.



## Ergebnisse der Pi-Formalgenetik

Die formalgenetische Analyse des Pi-Polymorphismus stützt sich auf die Aufspaltung der Kinderphänotypen (n = 295) bei 14 verschiedenen Elternkombinationen (n = 104).

Die Aufspaltung der Kinderphänotypen in den jeweiligen Elternkombinationen ist im einzelnen in der nachfolgenden Tabelle I dargestellt:

Pi- Formalgenetik

Aufspaltung der Kinderphänotypen in verschiedenen Elternkombinationen

Tabelle I

| Elternkomb. | | Kinderphänotypen | | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | n | M1 | M1M2 | M1M3 | M1Var | M2 | M2M3 | M2Var | M3 | M3Var | $\chi^2$ |
| M1 x M1 | 55 | 150 | - | - | - | - | - | - | - | - | |
| | 49.3 | 150.0 | | | | | | | | | |
| x M1M2 | 15 | 21 | 19 | - | - | - | - | - | - | - | 0.1 |
| | 23.8 | 20.0 | 20.0 | | | | | | | | |
| x M1M3 | 5 | 7 | - | 7 | - | - | - | - | - | - | 0.0 |
| | 7.1 | 7.0 | | 7.0 | | | | | | | |
| x M1Var | 10 | 22 | - | - | 13 | - | - | - | - | - | 2.3 |
| | 9.5 | 17.5 | | | 17.5 | | | | | | |
| x M2 | 2 | - | 6 | - | - | - | - | - | - | - | |
| | 1.4 | | 6.0 | | | | | | | | |
| x Var | 1 | - | - | - | 3 | - | - | - | - | - | |
| | 0.2 | | | | 3.0 | | | | | | |
| x M2Var | 1 | - | 2 | - | 2 | - | - | - | - | - | |
| | 0.3 | | 2.0 | | 2.0 | | | | | | |
| M1M2 x M1M2 | 7 | 6 | 8 | - | - | 2 | - | - | - | - | 2.0 |
| | 2.9 | 4.0 | 8.0 | | | 4.0 | | | | | |
| x M1M3 | 3 | 4 | 4 | 0 | - | - | 2 | - | - | - | 4.4 |
| | 1.7 | 2.5 | 2.5 | 2.5 | | | 2.5 | | | | |
| x M1Var | 1 | 0 | 2 | - | 0 | - | - | 0 | - | - | |
| | 2.3 | 0.5 | 0.5 | | 0.5 | | | 0.5 | | | |
| x M2 | 1 | - | 5 | - | - | 0 | - | - | - | - | |
| | 0.3 | | 2.5 | | | 2.5 | | | | | |
| x M2M3 | 1 | - | 0 | 2 | - | 0 | 1 | - | - | - | |
| | 0.2 | | 0.75 | 0.75 | | 0.75 | 0.75 | | | | |
| M1M3 x M1Var | 1 | 2 | - | 0 | 1 | - | - | - | - | 1 | |
| | 0.7 | 1.0 | | 1.0 | 1.0 | | | | | 1.0 | |
| M3 x M2M3 | 1 | - | - | - | - | - | 0 | - | 3 | - | |
| | <0.1 | | | | | | 1.5 | | 1.5 | | |
| Summe | 104 | 212 | 46 | 9 | 19 | 2 | 3 | 0 | 3 | 1 | |
| | 99.7 | 202.5 | 42.25 | 11.25 | 24 | 7.25 | 4.75 | 0.5 | 1.5 | 1.0 | |

## Ergebnisse der Pi-Formalgenetik

Die Aufspal'tung der Kinderphänotypen erfolgte bei den angeführten Elternkombinationen regelrecht und nicht im Widerspruch zu dem formalen Modell:

3 häufige ($Pi^{M1}$, $Pi^{M2}$, $Pi^{M3}$) sowie seltene Allele Pi an einem autosomalen locus Pi.

Mutter-Kind-Ausschlüsse wurden nicht beobachtet.

Die Übereinstimmung zwischen Beobachtungswert (BW) und Erwartungswert (EW) ist gut in den Feldern, die ausreichend besetzt sind (z.B. $M_1M_2 \times M_1$).

Die Berechnung des $\chi^2$ der Aufspaltung der Kinderphänotypen bestätigt diese Aussage.

Die Berechnung der EW der Elternkombinationen erfolgte nach den Genhäufigkeiten aus Tabelle II:

| | | | |
|---|---|---|---|
| Eltern | $Pi^{M1}$ | = | 0.82 |
| | $Pi^{M2}$ | = | 0.11 |
| | $Pi^{M3}$ | = | 0.03 |
| | $Pi^{Var}$ | = | 0.04 |
| | $\Sigma$ | = | 1.00 |

Ermittelte Genhäufigkeiten für Pi im untersuchten südwestdeutschen Probandenkollektiv

Tabelle II

| Genhäufigkeit | pi $M^1$ | pi $M^2$ | pi $M^3$ | pi Var |
|---|---|---|---|---|
| Eltern (n = 208) | 0.82 | 0.11 | 0.03 | 0.04 |
| Varianz | 0.02 | 0.02 | <0.01 | 0.01 |
| Kinder (n = 295) | 0.84 | 0.09 | 0.03 | 0.03 |
| Varianz | 0.02 | 0.01 | <0.01 | <0.01 |

## Gruppenspezifische Komponente

### Zymogrammbeschreibung

Abbildung 3 zeigt von links nach rechts:
Gc 1F, Gc 1F1S, Gc 1S, Gc 2-1S, Gc 2-1F, Gc 2.

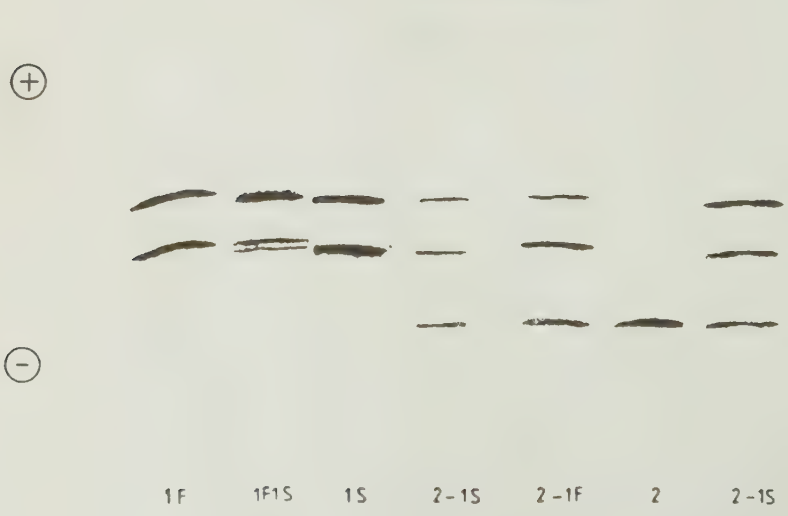
Wir beobachten 5 verschiedene Bandenmuster der Gruppenspezifischen Komponente (Gc).

Jedes einzelne Muster ist jeweils charakteristisch für einen Phänotypus.

Homozygote Phänotypen Gc 1S sind durch 2 kräftige Banden gekennzeichnet. Genprodukte gc 1F imponieren als 2 kräftige Banden, die gegenüber gc 1S anodisch verschoben erscheinen.

Genprodukte gc 2 stellen sich als eine einzelne kräftige Bande dar, die deutlich kathodisch von gc 1S und gc 1F zu liegen kommt.

Die heterozygoten Phänotypen imponieren als eine Mischung aus den jeweiligen homozygoten Phänotypen.



## Ergebnisse der Gc-Formalgenetik

Die formalgenetische Analyse des Gc-Polymorphismus stützt sich auf die Aufspaltung der Kinderphänotypen (n = 313) bei 14 verschiedenen Elternkombinationen (n = 109).

Die Aufspaltung der Kinderphänotypen in den jeweiligen Elternkombinationen ist im einzelnen in der nachfolgenden Tabelle III dargestellt:

Gc-Formalgenetik

Aufspaltung der Kinderphänotypen in verschiedenen Elternkombinationen

Tabelle III

| Elternkomb. | n | Kinderphänotypen 1S | 1F1S | 2-1S | 1F | 2-1F | 2 | $\chi^2$ |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 1S x 1S | 20 | 52 | - | - | - | - | - | |
| | 19.5 | 52.0 | | | | | | |
| x 1F1S | 14 | 17 | 20 | - | - | - | - | 0.24 |
| | 13.2 | 18.5 | 18.5 | | | | | |
| x 1F | 1 | - | 2 | - | - | - | - | |
| | 1.1 | | 2.0 | | | | | |
| x 2-1S | 24 | 43 | - | 34 | - | - | - | 1.06 |
| | 28.7 | 38.5 | | 38.5 | | | | |
| x 2-1F | 6 | - | 8 | 12 | - | - | - | 0.80 |
| | 4.9 | | 10.0 | 10.0 | | | | |
| x 2 | 2 | - | - | 7 | - | - | - | |
| | 5.3 | | | 7.0 | | | | |
| 1F1S x 1F1S | 5 | 5 | 7 | - | 5 | - | - | 1.00 |
| | 2.2 | 4.25 | 8.5 | | 4.25 | | | |
| x 2-1S | 9 | 6 | 3 | 9 | - | 5 | - | |
| | 9.7 | 5.75 | 5.75 | 5.75 | | 5.75 | | 3.27 |
| x 2-1F | 3 | - | 1 | 3 | 4 | 1 | - | |
| | 1.6 | | 2.25 | 2.25 | 2.25 | 2.25 | | |
| x 2 | 1 | - | - | 2 | - | 0 | - | |
| | 1.8 | | | 1.0 | | 1.0 | | |
| 2-1S x 2-1S | 15 | 10 | - | 19 | - | - | 9 | 0.5 |
| | 10.6 | 9.5 | | 19.0 | | | 9.5 | |
| x 2-1F | 3 | - | 1 | 4 | - | 4 | 5 | 2.5 |
| | 3.6 | | 3.5 | 3.5 | | 3.5 | 3.5 | |
| x 2 | 5 | - | - | 5 | - | - | 7 | 0.3 |
| | 3.9 | | | 6.0 | | | 6.0 | |
| 2 x 2 | 1 | - | - | - | - | - | 2 | |
| | 0.4 | | | | | | 2.0 | |
| Summe | 109 | 133 | 42 | 95 | 9 | 10 | 23 | |
| | 106.5 | 128.5 | 50.5 | 93.0 | 6.5 | 12.5 | 21.0 | |

## Ergebnisse der Gc-Formalgenetik

Die Aufspaltung der Kinderphänotypen erfolgte bei den angeführten Elternkombinationen regelrecht und nicht im Widerspruch zu dem formalen Modell:

3 häufige Allele Gc ($Gc^{1S}$, $Gc^{1F}$, $Gc^{2}$) an einem autosomalen locus Gc.

Mutter-Kind-Ausschlüsse wurden nicht beobachtet.

Die Übereinstimmung zwischen Beobachtungswert (B) und Erwartungswert (EW) ist gut in den Feldern, die ausreichend besetzt sind (z.B. 1S x 1F1S; 1S x 2-1S).

Die Berechnung des $\chi^2$ der Aufspaltung der Kinderphänotypen bestätigt diese Aussage.

Die Berechnung der EW der Elternkombinationen erfolgte nach den Genhäufigkeiten aus Tabelle IV:

| | | | |
|---|---|---|---|
| Eltern | $Gc^{1S}$ | = | 0.65 |
| | $Gc^{1F}$ | = | 0.11 |
| | $Gc^{2}$ | = | 0.24 |
| | $\Sigma$ | = | 1.00 |

Ermittelte Genhäufigkeiten Gc im untersuchten südwestdeutschen Probandenkollektiv

Tabelle IV

| Genhäufigkeit | 1S | 1F | 2 |
|---|---|---|---|
| Eltern n = 218 | 0.65 | 0.11 | 0.24 |
| Varianz | 0.02 | 0.02 | 0.02 |
| Kinder n = 313 | 0.65 | 0.11 | 0.24 |
| Varianz | 0.02 | 0.01 | 0.02 |

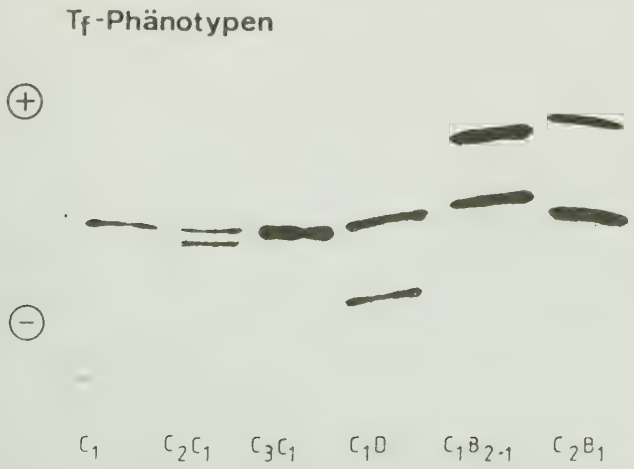
## Ergebnisse der Tf-Formalgenetik

### Zymogrammbeschreibung

Abbildung 4 zeigt häufige und seltene Tf-Phänotypen von links nach rechts:
Tf C1, Tf C1C2, Tf C1C3, Tf C1D, Tf C1B2-1, Tf C2B1.

Durch eine ausreichende Vorbehandlung (Neuraminisierung und Eisensättigung) ergeben sich einfache Tf-Bandenmuster:
Die Homozygoten sind durch eine Bande, die Heterozygoten durch Doppelbanden gekennzeichnet.
Genprodukte tf C2 liegen kathodisch von tf C1; Genprodukte tf C3 liegen zwischen C1 und C2.
Heterozygote Phänotypen Tf C1C3 sowie Tf C2C3 sind bei kräftiger Anfärbung nicht mehr als Doppelbanden erkennbar, sondern als verbreiterte Einzelbanden.
Die seltenen Varianten (B, D) lassen sich auch mit anderen Trennverfahren darstellen (z.B. Stärkegelelektrophorese).

Die relativen Migrationsunterschiede sind bei der Elektrofokussierung dieselben wie bei der Elektrophorese, d.h. Genprodukte tf B liegen deutlich anodisch von tf C, Genprodukte tf D liegen deutlich kathodisch von tf C.



## Ergebnisse der Tf-Formalgenetik

Die formalgenetische Analyse des Tf-Polymorphismus stützt sich auf die Aufspaltung der Kinderphänotypen (n = 279) bei 11 verschiedenen Elternkombinationen (n = 97).

Die Aufspaltung der Kinderphänotypen in den jeweiligen Elternkombinationen ist in der nachfolgenden Tabelle V dargestellt:

## Tf-Formalgenetik

Aufspaltung der Kinderphänotypen in verschiedenen Elternkombinationen.

Tabelle V

| Elternkomb. TfC | n | Kinderphänotypen 1 | 2-1 | 3-1 | V-1 | 2 | 2-3 | 3 | $\chi^2$ |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 1 x 1 | 47 | 141 | - | - | - | - | - | - | |
| | 39.7 | 141.0 | | | | | | | |
| x 2-1 | 22 | 30 | 29 | - | - | - | - | - | 0.02 |
| | 33.8 | 29.5 | 29.5 | | | | | | |
| x 3-1 | 1 | 0 | - | 2 | - | - | - | - | |
| | 6.0 | 1.0 | | 1.0 | | | | | |
| x V-1 | 2 | 6 | - | - | 2 | - | - | - | |
| | 1.0 | 4.0 | | | 4.0 | | | | |
| x 2 | 6 | - | 16 | - | - | - | - | - | |
| | 3.6 | | 16.0 | | | | | | |
| 2-1 x 2-1 | 13 | 10 | 12 | - | - | 11 | - | - | 2.32 |
| | 7.2 | 8.25 | 16.5 | | | 8.25 | | | |
| x 2 | 1 | - | 3 | - | - | 1 | - | - | |
| | 1.6 | | 2.0 | | | 2.0 | | | |
| x 3 | 1 | - | - | 2 | - | - | 2 | - | |
| | <0.1 | | | 2.0 | | | 2.0 | | |
| 3-1 x 3-1 | 1 | 0 | - | 2 | - | - | - | 0 | |
| | 0.9 | 0.5 | | 1.0 | | | | 0.5 | |
| x 3-2 | 1 | - | 2 | 0 | - | - | 1 | 1 | |
| | 0.6 | | 1.0 | 1.0 | | | 1.0 | 1.0 | |
| x 3 | 2 | - | - | 4 | - | - | - | 2 | |
| | <0.1 | | | 3.0 | | | | 3.0 | |
| Summe | 97 | 187 | 62 | 10 | 2 | 12 | 3 | 3 | |
| | 94.4 | 184.25 | 65.0 | 8.0 | 4.0 | 10.25 | 3.0 | 4.5 | |

V = Varianten Tf B, D

## Ergebnisse der Tf-Formalgenetik

Die Aufspaltung der Kinderphänotypen erfolgte bei den angeführten Elternkombinationen regelrecht und nicht im Widerspruch zu dem formalen Modell:

3 häufige ($Tf^{C1}$, $Tf^{C2}$, $Tf^{C3}$) sowie mehrere seltene Tf-Varianten an einem autosomalen locus Tf.

Eltern-Kind-Ausschlüsse wurden nicht beobachtet.

Die Übereinstimmung zwischen Beobachtungswert (BW) und Erwartungswert (EW) ist gut in den Feldern, die ausreichend besetzt sind (z.B. C1 x C1C2).

Die Berechnung des $\chi^2$ der Aufspaltung der Kinderphänotypen bestätigt diese Aussage.

Die Berechnung der EW der Elternkombination erfolgte nach den Genhäufigkeiten aus Tabelle VI:

| | | | |
|---|---|---|---|
| Eltern | $Tf^{C1}$ | = | 0.79 |
| | $Tf^{C2}$ | = | 0.17 |
| | Tf C3 | = | 0.03 |
| | $Tf^{Var}$ | = | 0.005 |
| | $\Sigma$ | = | 1.00 |

Ermittelte Genhäufigkeiten Tf im untersuchten südwestdeutschen Probandenkollektiv

Tabelle VI

| Genhäufigkeit | tf C1 | tf C2 | tf C3 | tf Var |
|---|---|---|---|---|
| Eltern n = 194 | 0.79 | 0.17 | 0.03 | <0.01 |
| Varianz | 0.02 | 0.02 | <0.01 | <0.01 |
| Kinder n = 279 | 0.80 | 0.17 | 0.03 | <0.01 |
| Varianz | 0.02 | 0.02 | <0.01 | <0.01 |

## Diskussion der Populationsgenetik

### Pi-Analyse

Die vorgelegten Allelhäufigkeiten aus dem südwestdeutschen Raum wurden mit den Resultaten anderer Autoren an verschiedenen weißen Bevölkerungsstichproben verglichen (siehe Tabelle).

Pi-Allelhäufigkeiten — Tabelle VII

| Serie | n | $M_1$ | $M_2$ | $M_3$ | $M_{var}$ | Autoren |
|---|---|---|---|---|---|---|
| USA (Weiße) | 480 | 0.64 ±0.02 | 0.19 ±0.01 | 0.11 ±0.01 | 0.06 ±0.01 | Küppers F. and Christopherson M.J. 1978 (32) |
| Holländer | 131 | 0.75 ±0.03 | 0.13 ±0.02 | 0.05 ±0.01 | 0.07 ±0.02 | Frants R.R. and Eriksson A.W. 1978 (22) |
| Deutsche | | | | | | |
| Marburg | 146 | 0.68 ±0.03 | 0.15 ±0.02 | 0.11 ±0.02 | 0.05 ±0.01 | Cleve H., Patuschnik W., Strecker and S. Nevo, 1979 (5) |
| München | 246 | 0.76 ±0.02 | 0.14 ±0.02 | 0.08 ±0.01 | 0.02 ±0.01 | " |
| Süddeutschland | 538 | 0.75 ±0.01 | 0.15 ±0.01 | 0.06 ±0.01 | 0.03 ±0.01 | Genz Th., Martin J.P., Cleve H. 1977 (24) |
| Südwestdeutschland | 505 | 0.83 ±0.01 | 0.10 ±<0.01 | 0.03 ±<0.01 | 0.04 ±<0.01 | Verfasser 1980 |

$M_{var}$ ≙ Varianten S, Z

## Diskussion der Populationsgenetik

### Pi-Analyse

Die ermittelten südwestdeutschen Allelhäufigkeiten zeigen einige Unterschiede zu den anderen deutschen Untersuchungsergebnissen.

Auffällig ist der hohe Prozentsatz des Allels $Pi^{M1}$ in dieser Serie bei relativ niedrigen Häufigkeiten für $Pi^{M2}$ und $Pi^{M3}$. Dies kann auf verschiedene Weise begründet sein:

a) durch unterschiedliche Genhäufigkeiten $Pi^{M1}$ in verschiedenen Subpopulationen, d.h. in Südwestdeutschland finden wir mehr Allele $Pi^{M1}$ als z.B. in München (Cleve et al., 1979).

b) durch noch bestehende technische Schwierigkeiten bei der Identifizierung der Genprodukte piM3, d.h. Zymogramme von Individuen, die tatsächlich heterozygot piM1M3 sind, werden fälschlicherweise als homozygoter Phänotypus PiM1 abgelesen und PiM3M2 als PiM2.

## Diskussion der Populationsgenetik

### Gc-Analyse

Die vorgelegten Allelhäufigkeiten aus dem südwestdeutschen Raum wurden mit den Ergebnissen anderer Untersuchungen an verschiedenen Bevölkerungsstichproben verglichen (siehe Tabelle).

Tabelle VIII

| Serie | n | 1S | 1F | 2 | Var | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| Deutsche | 261 | 0.60<br>±0.02 | 0.13<br>±0.01 | 0.27<br>±0.02 | -<br>- | Kühnl, Spielmann 1978 (29) |
| München | 440 | 0.5920<br>±0.02 | 0.1443<br>±0.01 | 0.2614<br>±0.02 | 0.0023<br>±0.002 | H. Cleve, W. Patuschnik, C. Nevo and G.G. Wendt 1978 (4) |
| Marburg | 146 | 0.5514<br>±0.03 | 0.1781<br>±0.02 | 0.2705<br>±0.03 | -<br>- | "<br>" |
| Südwest-deutschland | 531 | 0.65<br>±0.01 | 0.11<br>±<0.01 | 0.24<br>±0.01 | - | Verfasser |

Es zeigt sich eine gute Übereinstimmung der südwestdeutschen Serie mit den Resultaten anderer Autoren. Die bestehenden Unterschiede liegen innerhalb der Varianz.

## Diskussion der Populationsgenetik

### Tf-Analyse

Die vorgelegten Allelhäufigkeiten aus dem südwestdeutschen Raum wurden mit den Resultaten anderer Untersuchungen an deutschen Bevölkerungsstichproben verglichen (siehe Tabelle).

Tabelle IX

| Serie | n | $C_1$ | $C_2$ | $C_3$ | Var | Autoren |
|---|---|---|---|---|---|---|
| Deutsche | 942 | 0.82 ±0.01 | 0.17 ±0.01 | x) | 0.01 ±0.002 | Stibler H., Beckman G., Sikstöm C., 1979 (42) |
| Hessen | 252 | 0.795 ±0.02 | 0.155 ±0.02 | 0.042 ±0.01 | 0.008 ±0.004 | Kühnl P. und Spielmann W. 1979 (30) |
| Südwest-deutsch-land | 473 | 0.79 ±0.01 | 0.17 ±0.01 | 0.03 ±<0.01 | <0.005 ±<0.01 | Verfasser 1980 |

x) nicht unterschieden

Die südwestdeutsche Serie zeigt eine gute Übereinstimmung mit den Resultaten von Kühnl und Spielmann. Die vorhandenen Differenzen liegen innerhalb der Varianz.

Ein direkter Vergleich mit den Ergebnissen von Stibler et al. ist nur beschränkt möglich, da für $Tf^C$ nur zwischen $C_1$ und $C_2$ unterschieden wird.

## Kopplungsanalyse

Die Kopplungsanalyse wurde mit Hilfe der lod[+)]-score Methode durchgeführt. Diese Methode liefert Wahrscheinlichkeitswerte für Kopplung zwischen zwei Genorten.

Nach der Standard lod table berechnet man die Wahrscheinlichkeiten für Rekombinationsfrequenzen von 0.00 = 0 %, 0.05 = 5 %, 0.1 = 10 %, 0.2 = 20 %, 0.3 = 30 % sowie 0.4 = 40 %. Rekombinationsfrequenzen von 50 % sind identisch mit freier Rekombination. Die errechneten Wahrscheinlichkeiten einzelner informativer Familien sind Logarithmen und können addiert werden.

Dadurch lassen sich auch beim Vorliegen von nur zwei Generationen und kleinen Familien Aussagen über das Vorliegen einer Kopplung machen.

Nachteilig ist, daß man, besonders bei hohen Rekombinationsfrequenzen, sehr viele Familien benötigt, um eine Aussage machen zu können. Lods über +3.0 (dies bedeutet: Die Wahrscheinlichkeit für das Vorliegen einer Kopplung ist 1000 mal größer als für Nichtkopplung) werden als beweisend für Kopplung gewertet. Lod score-Werte $\leq$ -2.0 gelten hinwieder als Beweis für Nichtkopplung.

Die Berechnung der lods erfolgte nach den tabellierten Werten in Maynard-Smith (33).

---

[+)] lod = log odds

Pi-Kopplungsanalyse

In der folgenden Tabelle ( X) sind die Ergebnisse der Pi-Kopplungsanalyse aufgelistet. 28 polymorphe Marker wurden untersucht.

Während des 6. Int. Workshop on Human Gene Mapping (1981) wurde der Pi-locus dem Chromosom 14 zugeordnet. (Report of the committee on the constitution of chromosomes 13-22; (21) Ferguson-Smith M.A. and A. Westerveld, 1981.) Ebenso wurde der Gm-locus diesem Chromosom zugeordnet.

Zu diesen Zeitpunkt noch nicht sicher chromosomal zugeordnet waren die Genorte für die Systeme GPT, Jk, Tf, $C_3$, CDA und MEM. Deshalb wurden die Ergebnisse der Kopplungsanalyse mit diesen Systemen extra aufgeführt.

## Pi-Kopplungsanalyse

Kopplungsbeziehungen zwischen dem Pi-locus und den loci für Jk, $C_3$, Tf, GPT, CDA, MEM, GOTM.

Jk und CDA: Prof. Ritter; $C_3$: Prof. Schmitt; MEM, GPT, GOTM: Dr. Kömpf

Tabelle X

| System | nFam. | nKd. | Z-SCORE-Werte für θ 0.05 | 0.1 | 0.2 | 0.3 | 0.4 |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Jk | 13 | p 22 | -4.978 | -2.870 | -1.400 | -0.372 | -0.076 |
| | | m 16 | -2.832 | -1.575 | -0.568 | -0.187 | -0.036 |
| | | Σ 38 | -7.810 | -4.445 | -1.968 | -0.559 | -0.112 |
| $C_3$ | 3 | p 6 | -1.184 | -0.673 | -0.254 | -0.088 | -0.019 |
| | | m - | - | - | - | - | - |
| | | Σ 6 | -1.184 | -0.673 | -0.254 | -0.088 | -0.019 |
| Tf | 10 | p 21 | -0.743 | 0.094 | 0.530 | 0.431 | 0.160 |
| | | m 9 | -0.927 | -0.458 | -0.120 | -0.023 | -0.002 |
| | | Σ 30 | -1.670 | -0.364 | 0.410 | 0.408 | 0.158 |
| CDA | 5 | p 10 | -0.670 | -0.243 | 0.014 | 0.042 | 0.015 |
| | | m 5 | 0.791 | 0.680 | 0.452 | 0.234 | 0.066 |
| | | Σ 15 | 0.121 | 0.437 | 0.466 | 0.276 | 0.081 |
| MEM | 7 | p 9 | -0.927 | -0.458 | -0.120 | -0.023 | -0.002 |
| | | m 8 | -1.905 | -1.117 | -0.448 | -0.164 | -0.037 |
| | | Σ 17 | -2.832 | -1.575 | -0.568 | -0.187 | -0.039 |
| GPT | 23 | p 42 | -7.534 | -4.194 | -1.484 | -0.450 | -0.082 |
| | | m 21 | -3.277 | -1.769 | -0.578 | -0.158 | -0.025 |
| | | Σ 63 | -10.811 | -5.963 | -2.062 | -0.608 | -0.107 |
| GOTM | 1 | p - | - | - | - | - | - |
| | | m 2 | 0.258 | 0.215 | 0.134 | 0.064 | 0.017 |
| | | Σ 2 | 0.258 | 0.215 | 0.134 | 0.064 | 0.017 |

θ = Rekombinationsfrequenz
p = Vater doppelt heterozygot
m = Mutter doppelt heterozygot

Pi-Kopplungsanalyse

Tabelle XI: Kopplungsbeziehungen zwischen den loci für Pi und Gm

| | | | Z-SCORE-Werte für θ | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| nFam. | Sex | nKd. | 0.05 | 0.1 | 0.2 | 0.3 | 0.4 |
| 7 | p | 18 | -1.577 | -0.665 | -0.056 | 0.060 | 0.030 |
| 5 | m | 19 | -3.254 | -1.727 | -0.513 | -0.092 | 0.005 |
| 12 | Σ | 37 | -4.831 | -2.392 | -0.569 | -0.032 | 0.035 |

Schwache Hinweise für Kopplung ergaben sich v.a. im männlichen Geschlecht: Z max. = 0.60 für θ = 0.3. Für genauere Daten ist ein wesentlich umfangreicheres Familiengut erforderlich.

Die Untersuchungen von Goedde-Dahl jr. et al. (23) zur Kopplung zwischen Pi umd Gm brachten folgende Ergebnisse:

Tabelle XII

| | nKd. | lod | θ |
|---|---|---|---|
| p | 54 | 10.09 | 0.20 (0.15 - 0.27) |
| m | 76 | 6.23 | 0.25 (0.19 - 0.33) |

Hieraus ergeben sich für die loci Pi und Gm Rekombinationshäufigkeiten zwischen 20 und 30 %. Die Kopplungsergebnisse aus der Tübinger Familienserie unterstützen die Befunde dieser Autoren in folgender Weise: Kopplung zwischen Gm und Pi läßt sich durch umfangreiche Familienuntersuchungen absichern. Enge Kopplung zwischen diesen Genorten liegt nicht vor.

Zur Pi-Kopplungsanalyse

Aus Tabelle X ergeben sich Kopplungsausschlüsse für die Rekombinationsfrequenzen bei folgenden Systemen (beide Geschlechter zusammen):

Tabelle XIII

| System | Rekombinationsfrequenz θ |
|---|---|
| MEM | 0.05 |
| Jk | 0.1 |
| GPT | 0.2 |

Leicht positive lod-score Werte wurden für die Kopplung mit Tf ($Z = 0.4$, $\theta = 0.2$) und mit CDA ($Z = 0.5$, $\theta = 0.2$) gefunden. Weitere Untersuchungen werden ergeben, ob diese Befunde zufällig sind, oder ob die loci dieser Marker tatsächlich mit Pi gekoppelt sind.

Für die Systeme $C_3$ und GOTM ist der Materialumfang noch zu gering, um Schlüsse ziehen zu können.

## Gc-Kopplungsanalyse

Nach Untersuchungen von Cook et al. 1981 (12) (HGM 6) liegt der Gc-locus im distalen Chromosomenabschnitt 4q13. Dem langen Arm des Chromosoms Nr. 4 wurden auch die MN/Ss-loci zugeordnet (Cook et al., 1981). Von daher gesehen erscheint die Familienanalyse der MNSs-Gc Kopplung interessant. Darüberhinaus sind die Kopplungsbeziehungen zu den loci Jk, $C_3$, Tf, GPT, CDA, MEM, die derzeit noch nicht gesichert zugeordnet sind, aufgeführt.

Tabelle XIV

| | | | | Z-Score für θ | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Marker | nFam. | Sex | nKd. | 0.05 | 0.1 | 0.2 | 0.3 | 0.4 |
| Tf | 21 | p | 34 | x | x | -0.70 | -0.13 | 0.00 |
| | | m | 28 | -0.97 | 0.04 | 0.54 | 0.41 | 0.14 |
| $C_3$ | 10 | p | 10 | -0.651 | -0.21 | 0.06 | 0.08 | 0.03 |
| | | m | 13 | -0.41 | -0.03 | 0.15 | 0.10 | 0.03 |
| GPT | 31 | p | 38 | x | x | -1.42 | -0.44 | -0.08 |
| | | m | 52 | x | x | -1.93 | -0.62 | -0.12 |
| Jk | 21 | p | 22 | -1.34 | -0.47 | 0.03 | 0.08 | 0.03 |
| | | m | 33 | x | x | -0.83 | -0.30 | -0.06 |
| CDA | 5 | p+m | 13 | -1.11 | -0.44 | 0.00 | 0.07 | 0.03 |
| MEM | 3 | p+m | 10 | -1.91 | -1.12 | -0.44 | -0.16 | -0.04 |

x = Z-Score ≦ -2; p = Vater doppelt heterozygot
m = Mutter doppelt heterozygot

Mit Ausnahme von CDA und MEM (Informationen noch zu gering) ist für die Systeme Tf, GPT, Jk enge Kopplung ausgeschlossen. Die Jk- und $C_3$-Daten sollten an Hand weiterer Familienanalysen überprüft werden!

Gc-MNSs - Kopplungsanalyse

Die Ergebnisse dieser Kopplungsanalyse stammen aus Familienuntersuchungen (n = 82), die in Zusammenarbeit mit Prof. Ritter durchgeführt wurden.

Tabelle XV

| | | Z-SCORE für θ | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| nKd | Sex | 0.05 | 0.1 | 0.2 | 0.3 | 0.4 |
| 45 | p | -11.17 | - 4.64 | -0.14 | 0.74 | 0.37 |
| 37 | m | -20.70 | -11.49 | -4.32 | -1.18 | -0.19 |
| 82 | Σ | -31.87 | -16.13 | -4.46 | -0.44 | 0.18 |

Die Ergebnisse stimmen in der Tendenz recht gut mit denen von Eiberg und Mohr (17) überein:

Tabelle XVI

| | | Z-SCORE für θ | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| nKd | Sex | 0.05 | 0.1 | 0.2 | 0.3 | 0.4 |
| ? | p | -86.27 | -41.19 | -7.78 | 1.54 | 1.97 |
| ? | m | -131.00 | -79.92 | -23.81 | -6.35 | -0.59 |

Addiert man die lod score Werte für die väterlichen Meiosen beider Untersuchungen, so ergibt sich:

Tabelle XVII

| | Z-SCORE für θ | | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| | 0.05 | 0.1 | 0.2 | 0.3 | 0.4 |
| p | -97.44 | -45.83 | -7.92 | 2.28 | 2.34 |

Gc-Kopplungsanalyse

Die Addition der väterlichen lod score Werte aus beiden Untersuchungen zeigt ein Maximum von +2,34 für $\theta = 0.4$. Daraus könnte man vorsichtig den Abstand zwischen beiden Genloci auf etwa 40 cM schätzen.

Die mütterlichen Werte in beiden Serien sind allerdings für alle Rf-Werte durchweg negativ. Dieser Befund spricht nicht gegen Kopplung zwischen Gc und MNSs. Geschlechtsdifferenzen dieser Art kommen praktisch bei allen Kopplungsanalysen vor. Einen guten Vergleich in dieser Hinsicht liefert die Kopplung zwischen $PGM_3$ und HLA. Auch hier finden wir positive Ergebnisse praktisch nur im männlichen Geschlecht.

## Transferrin (Tf) - Kopplungsanalyse

Nach der VI. Conference on human gene mapping ist der Transferrin locus nicht chromosomal zugeordnet (Report of the Committee of unassigned linkage groups (34). Klassische Kopplungsanalysen wurden deshalb mit einer ganzen Reihe von polymorphen Markern durchgeführt.

Die Systeme sind nach ihrer chromosomalen Zuordnung aufgelistet. Kopplungsausschlüsse (lods $\leqq$ -2.0) sind für die entsprechenden Rekombinationshäufigkeiten durch das Symbol x gekennzeichnet. Alle Kopplungsinformationen mit weniger als 10 informativen Meiosen wurden weggelassen. Aufgrund des verhältnismäßig noch geringen Materialumfanges wurde auf eine Trennung nach Geschlechtern verzichtet.
(Familienuntersuchungen gemeinsam mit Prof. Ritter und Dr. Kömpf; HLA-Daten: Dr. Schunter.)
Chromosomale Zuordnung entnommen V.A. McKusick vom 25.6.1981 (34).

Enge Kopplung zwischen Tf und den meisten dieser Marker ist nach dieser Studie ausgeschlossen. Es ist unwahrscheinlich, daß der Tf-locus auf dem kurzen Arm des Chromosoms 1 oder des Chromosoms 6 liegt.

Kopplungsanalyse Tf

Tabelle XVIII

| n Fam. | n Kd. | Marker | Cromos. Zuordnung | Z-Score für θ 0.05 | 0.1 | 0.2 | 0.3 | 0.4 |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 14 | 37 | Rh | 1 p32-pter | x | x | -1.28 | -0.41 | -0.08 |
| 11 | 37 | $PGM_1$ | 1 p -p34 | x | x | -1.10 | -0.30 | -0.05 |
| 14 | 39 | MNSs | 4 q 28 ? | x | x | -0.64 | -0.10 | -0.01 |
| 21 | 61 | Gc | 4 q11-q13 | x | x | -0.16 | -0.28 | -0.14 |
| 15 | 47 | HLA | 6 p21-p23 | x | x | -1.81 | -0.54 | -0.09 |
| 12 | 32 | Bf | 6 p21-p23 | x | x | -0.89 | -0.26 | -0.04 |
| 13 | 37 | GLO | 6 p21-p22 | x | -1.68 | -0.07 | -0.24 | -0.08 |
| 10 | 26 | $PGM_3$ | 6 q12/q13 | x | x | -1.87 | -0.71 | -0.16 |
| 10 | 23 | Hp | 16 | x | -0.93 | -0.15 | -0.01 | -0.02 |

x = lod score Werte ≦ 0.02

Zusammenfassung

An einem Kollektiv von 110 Familien aus dem südwestdeutschen Raum wurden Untersuchungen zur Formalgenetik der polymorphen Serumproteine Gc, Tf und Pi durchgeführt sowie Kopplungsanalysen mit einer Reihe bekannter genetischer Marker vorgenommen.

Als Trennverfahren kam die Elektrofokussierung auf handelsüblichen Polyacrylamidgelträgerplatten (PAGIF) zur Anwendung. Die jeweils verwandten Materialien und Methoden werden beschrieben.

Aus der Aufspaltung der Kinderphänotypen in Familien ergab sich kein Widerspruch zu bestehenden formalen Modellen:

1. 3 häufige Allele Gc an einem autosomalen locus Gc.
2. 3 häufige sowie mehrere seltene Allele Tf an einem autosomalen locus Tf.
3. 3 häufige sowie mehrere seltene Allele Pi an einem autosomalen locus Pi.

Die aus den Familien ermittelten Genhäufigkeiten wurden mit den Ergebnissen anderer Autoren verglichen.

Die Kopplungsanalyse brachte folgende Ergebnisse:

1. Kopplung Gc-MnSs: Hinweis für eine Rekombinationshäufigkeit von ca. 40 % (männliches Geschlecht).
2. Kopplung Pi-Gm: Wahrscheinliche Rekombinationshäufigkeit von 30 %.
3. Tf (dieser locus ist bislang noch nicht chromosomal zugeordnet). Kopplungsauschlüsse für $\theta \leqq 10$ % mit den Systemen Rh, $PGM_1$, MNSs, Gc, HLA, Bf, GLO, $PGM_3$, Hp.

Kopplungsanalyse Tf

Tabelle XVIII

| n Fam. | n Kd. | Marker | Cromos. Zuordnung | Z-Score für θ 0.05 | 0.1 | 0.2 | 0.3 | 0.4 |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 14 | 37 | Rh | 1 p32-pter | x | x | -1.28 | -0.41 | -0.08 |
| 11 | 37 | $PGM_1$ | 1 p -p34 | x | x | -1.10 | -0.30 | -0.05 |
| 14 | 39 | MNSs | 4 q 28 ? | x | x | -0.64 | -0.10 | -0.01 |
| 21 | 61 | Gc | 4 q11-q13 | x | x | -0.16 | -0.28 | -0.14 |
| 15 | 47 | HLA | 6 p21-p23 | x | x | -1.81 | -0.54 | -0.09 |
| 12 | 32 | Bf | 6 p21-p23 | x | x | -0.89 | -0.26 | -0.04 |
| 13 | 37 | GLO | 6 p21-p22 | x | -1.68 | -0.07 | -0.24 | -0.08 |
| 10 | 26 | $PGM_3$ | 6 q12/q13 | x | x | -1.87 | -0.71 | -0.16 |
| 10 | 23 | Hp | 16 | x | -0.93 | -0.15 | -0.01 | -0.02 |

x = lod score Werte ≤ 0.02

Zusammenfassung

An einem Kollektiv von 110 Familien aus dem südwestdeutschen Raum wurden Untersuchungen zur Formalgenetik der polymorphen Serumproteine Gc, Tf und Pi durchgeführt sowie Kopplungsanalysen mit einer Reihe bekannter genetischer Marker vorgenommen.

Als Trennverfahren kam die Elektrofokussierung auf handelsüblichen Polyacrylamidgelträgerplatten (PAGIF) zur Anwendung. Die jeweils verwandten Materialien und Methoden werden beschrieben.

Aus der Aufspaltung der Kinderphänotypen in Familien ergab sich kein Widerspruch zu bestehenden formalen Modellen:

1. 3 häufige Allele Gc an einem autosomalen locus Gc.
2. 3 häufige sowie mehrere seltene Allele Tf an einem autosomalen locus Tf.
3. 3 häufige sowie mehrere seltene Allele Pi an einem autosomalen locus Pi.

Die aus den Familien ermittelten Genhäufigkeiten wurden mit den Ergebnissen anderer Autoren verglichen.

Die Kopplungsanalyse brachte folgende Ergebnisse:

1. Kopplung Gc-MnSs: Hinweis für eine Rekombinationshäufigkeit von ca. 40 % (männliches Geschlecht).
2. Kopplung Pi-Gm: Wahrscheinliche Rekombinationshäufigkeit von 30 %.
3. Tf (dieser locus ist bislang noch nicht chromosomal zugeordnet). Kopplungsauschlüsse für $\theta \leqq 10$ % mit den Systemen Rh, $PGM_1$, MNSs, Gc, HLA, Bf, GLO, $PGM_3$, Hp.

Literaturverzeichnis

1. Allen, R.C., Harley, R.A. and Talamo, R.C.:
A new method for determination of alpha-1-antitrypsin phenotypes using isoelectric focusing on polyacrylamide gel slabs.
Am. J. clin. Path. 62, 732-739 (1974)

2. Bundy, H.F. and Mehl, J.W.:
J. Biol. Chem. 234, 1124 (1959)
zitiert nach Frank W. Putnam: The Plasma Proteins
Academic Press, Vol. 1, 2nd Edition, New York (1960)

3. Beckmann, G. and Beckmann, L. (Umeå):
Serum levels of alpha-1-antitrypsin in individuals with different $Pi^M$ subtypes.
Hum. Hered. Vol. 30, No. 2 (1980) 129-135.

4. Cleve, H., Patutschnik, W., Nevo, S. and Wendt, G.G.:
Genetic Studies on the Gc-subtypes.
Hum. Genet. 44, 117-122 (1978)

5. Cleve, H., Patutschnik, W., Strecker, K. and Nevo, S. (München/Haifa):
Inheritance of $Pi^M$ subtypes. A study of 151 families with a total of 242 children and of 142 mother child pairs.
Hum. Hered. Vol. 29, No. 6 (1979) 351-354.

6. Cleve, H., Constans, J., Berg, S., Hoste, B., Ishimoto,G., Matsumoto, H., Spies, E.K., Weber, W. :
Gc revisited: Six further Gc -phenotypes deliniated by isoelectric focusing and by polyacrylamide gel electrophoresis.
Hum Genet. 57: 312 - 316 (1981).

7. Constans, J., Viau, M.:
Group-specific component: Evidence for two subtypes of the $Gc_1$ gene.
Science 198: 1070-1071 (1977)

8. Constans, J., Viau, M., Cleve, H., Jaeger, G., Ouilici, J.C. and Palisson, M.J.:
Analysis of the Gc polymorphism in human populations by isoelectric focusing on polyacrylamide gels. Demonstration of the Gc allele and of additional Gc variants.
Hum. Genet. 41: 53-60 (1978)

9. Constans, J. and Cleve, H.:
Group-specific component. Report on the first international workshop.
Hum. Genet. 48: 143-149 (1979)

10. Constans, J., Kühnl, P., Viau, M. and Spielmann:
A new procedure for the Determination of Transferrin $^{C}$ ($Tf^{C}$) subtypes by isoelectric focusing. Existence of two additional alleles $Tf^{C4}$ and $Tf^{C5}$.
Hum. Genet. 55: 111-114 (1980)

11. Constans, J., Viau, M. and Gouaillard, C.:
$Pi^{M4}$: An additional $Pi^{M}$ subtype.
Hum. Genet. 55: 119-121 (1980)

12. Cook et al. zitiert nach McAlpine, P.J. and Bootsma, D.: Report of the committee on the genetic constitution of chromosomes 2, 3, 4 and 5.
in HGM 6, Cytogenet. and Cell Genet. 32: 121-129 (1982)

13. Cox, D.W.:
New variants of alpha 1 -antitrypsin: comparison of Pi typing techniques.
Am. J. Hum. Genet 33: 334-365 (1981)

14. Cox, D.W., Johnson, A.M. and Fagerhol, M.K.:
Report of nomenclature meeting for alpha-1 - antitrypsin.
INSERM, Rouen/Bois-Guillaume, 1978
Hum. Genet. 53: 429-433 (1980)

15. Cox, D.W., Smyth, S., and Billingsby, G.:
Three new variants of alpha 1 antitrypsin.
Hum. Genet. 61: 123-126 (1982)

16. Daiger, S.P., Schanfield, M.S., Cavalli-Sforza,L.L.:
Group-spezific component (Gc) proteins bind vitamin D and 25-hydroxyvitamin D.
Proc. nat. Acad. Sci. (Wash.) 72: 2076-2080 (1975)

17. Eiberg, H. and Mohr, J.:
Lod scores between Gc, PLGN, MNSs, PON and $C_3$.
in HGM 6, Cytogenet. and Cell Genet. 32:270-271 (1982)

18. Eriksson, S.:
Studies in alpha-1-antitrypsin deficiency.
Acta Med. Scand. 77: 1 (suppl.) (1965)

19. Fagerhol, M.K. and Laurell, C.-B.:
The polymorphism of "prealbumins" and alpha-1-antitrypsin in human sera.
Clinica chim. Acta 16: 199-203 (1967)

20. Fagerhol, M.K. and Cox,D.W.:
The Pi polymorphism : Genetic, biochemical and clinical aspects of human alpha-1-antitrypsin.
In Harris, H. and Hirschhorn, K. (eds.) Advances in human genetics, vol. II. Plenum Press, New York, London, pp. 1-62 (1981)

21. Ferguson-Smith, M.A. and Westerveld, A.:
Report of the committee on the constitution of chromosomes 13-22.
in HGM 6, Cytogenet. and Cell Genet. 32:161-178 (1982)

22. Frants, R.R. and Eriksson, A.W. (Amsterdam):
Reliable classification of six $Pi^M$ subtypes by seperator isoelectric focusing.
Hum. Hered. Vol. 28, No. 3 (1978) 201-209.

23. Gedde-Dahl, R., Jr., Cook, P.J.L., Fagerhol, M.K. and Pierce, J.A.:
The Gm-Pi linkage: a summary estimate.
HGM 2 in Cytogenet. and Cell Genet. Vol. 14: 157-158 (1975)

24. Genz, Th., Martin, J.P. and Cleve, H.:
Classification of alpha-1-antitrypsin phenotypes by isoelectric focusing. Distinction of six subtypes of the PiM phenotype.
Hum. Genet. 38: 325-332 (1977)

25. Giblett, E.R.: Genetic Markers In Human Blood pp. 131-159 (1969) Blackwell Scientific.Public,,Oxford.

26. Hirschfeld, J.:
Immunoelectrophoretic demonstration of qualitative differences in human sera and their relation to the haptoglobins.
Acta Pathol. Microbiol. Scand. 47: 160-168 (1959)

27. Johnson, A.M.:
Genetic typing of alpha-1-antitrypsin by immunofixation electrophoresis. Identification of subtypes of $Pi^M$.
J. Lab. clin. Med. 87: 152-163 (1976)

28. Kühnl, P. and Spielmann, W.:
Transferrin: Evidence for two common subtypes of the $Tf^C$ allele.
Hum. Genet. 43: 91-95 (1978)

29. Kühnl, P., Spielmann, W. and Loa, M.:
An improved method for the identification of Gc-subtypes group-specific component by isoelectric focusing.
Vox Sang. 35: 401-404 (1978)

30. Kühnl, P. and Spielmann, W.:
A third common allele in the transferrin system $Tf^{C3}$. Detected by isoelectric focusing.
Hum. Genet. 50: 193-198 (1979)

31. Kühnl, P. and Spielmann, W.:
Ivestigations on the Pi polymorphism in a german population. Evidence für two new rare alleles, $Pi^{T}$ and $Pi^{<L}$. Ref. 8 Int. Tagung Ges. für Blutgruppenkunde; 419-425; London (1979)

32. Kueppers, F. and Christopherson, M.J.:
Alpha-1-antitrypsin: Further genetc heterogeneity revealed by isoelectric focusing.
Hum. Genet. 30: 359 pp (1978)

33. Maynard-Smith,S., Penrose, L.S., Smith, C.A.B.:
Mathematical tables for research workers in human genetics.
Churchill, London 1961)

34. Mc Kusick, V.A.and Edwards, J.H.:
The human gene map.
in HGM 6, Cytogenet. and Cell Genet. 32:191-193 (1982)

35. Milford Ward, A., Pickering, J.D., Fagerhol, M.K., Martin, J.P.:
Pi (antitrypsin)typing methods. A comparison of acid starch gel electrophoresis and isoelectric focusing.
Hum. Hered. 27: 292-297 (1977)

36. Acid starch gel electrophoresis for detection of alpha-1-antitrypsin (pi types): Outline of techniques employed currently. In: Pulmonary emphysema and proteolysis, hrsg. von C. Mittman. Academic Press, New York, 1972.

37. Putnam, F.W.: The Plasma Proteins, pp 424 Academic Press, Vol. 1, 2nd Edition, New York (1960)

38. Ritter, H.: Humangenetik;Grundlagen - Erkenntnisse - Entwicklungen. Herder; Freiburg, Basel, Wien (1977)

39. Rowley, P.T., Sevilla, M.L. and Schwartz, R.H.: Pathogenesis of deficient serum alpha-1-antitrypsin in the type ZZ-homozygote. Biochem. Genet. Vol. 12: No. 3, 235-242 (1974)

40. Sharp, H.H., Bridges, R.A., Krivit, W. and Freier E.F.: Cirrhosis associated with alpha-1-antitrypsin deficiency: A previously unrecognized inherited disorder. J. Lab. Clin. Med. 73: 934 pp. (1969)

41. Smithies, O.: Variation in human serum ß-globulins. Nature 180: 1482 (1957)

42. Stibler, H., Beckman, G. and Sikström, C.: Subtypes of transferrin C. Hum. Hered 29: 320-324 (1979)

43. Thymann, M.: Identification of a new serum protein polymorphism as transferrin. Hum. Genet. 43: 225-229 (1978)

44. Weidinger, S.: Untersuchungen der Isoenzym (PGM 1) - und Serumprotein (Gc, Tf, Pi) - Polymorphismen mittels der Isoelektrischen Fokussierung. Inauguraldissertation München (1982)

# Lebenslauf

Am 9. Februar 1954 wurde ich, Ulrich Schlagenhauf, als Sohn des Willi Schlagenhauf und dessen Ehefrau Lieselotte, geb. Glock, in Onstmettingen geboren.

Im Sommer 1973 legte ich am Gymnasium Ebingen in Ebingen das Abitur ab und leistete anschließend meinen Grundwehrdienst ab.

Im Wintersemester 1974/75 begann ich das Studium der Zahnmedizin an der Eberhard-Karls-Universität in Tübingen.

Nach erfolgreich abgelegter naturwissenschaftlicher, sowie zahnärztlicher Vorprüfung bestand ich am 20. Dezember 1979 das Staatsexamen und erhielt am 28. Dezember 1979 durch das Regierungspräsidium Stuttgart die Bestallung als Zahnarzt.

Im April 1980 begann ich mit dem praktischen Teil der vorgelegten Dissertation.

Von August 1980 bis Juli 1982 arbeitete ich als Assistent in der Abteilung für Zahnerhaltung des Zentrums für Zahn-, Mund- und Kieferheilkunde.

Seit September 1982 absolviere ich, unterstützt durch ein Graduiertenstipendium des Deutschen Akademischen Austauschdienstes, ein Graduiertenstudium für Parodontologie an der University of Washington in Seattle, USA.

Offsetdruck Spengler
Lessingstraße 4 · 7401 Neustetten 1
Telefon (0 74 72) 2 21 45